ECV **Ciencia Ecuador**
Revista científica multidisciplinar sobre Ciencias de la Salud, Naturales, Sociales y Formales

ISSN 2697-3316

Área: Ciencias de la Vida
Disciplina: Microbiología
Tipo de artículo: Artículo de revisión

Cryptococcus gattii, una breve revisión microbiológica.

Autores

Parra-Vera, Henry Junior [a,b,c], Buele-Chica, Dayci Colombia [a,b], Farfán-Cano, Stanley Guillermo [a,b,d,e,f], Barrera-Barroso, Lenay [a,g], Shigla-Chalen, Borys Nahum [a,b,].

Afiliación institucional

- **a) Centro de Investigación Microbiológica (CIM)**, Ecuador.
- **b)** Universidad de Guayaquil, Ecuador.
- **c)** Universidad Técnica de Machala, Ecuador.
- **d)** Universidad Rey Juan Carlos, España.
- **e)** Ministerio de Salud Pública, Ecuador.
- **f)** Sociedad de Infectología del Guayas, Ecuador.
- **g)** Universidad de la Habana, Cuba.

Identificación de la responsabilidad y contribución de los autores
Los autores declaran haber contribuido de forma similar en la idea original, diseño del estudio, recolección de dato, análisis de datos, redacción del borrador y redacción del artículo.

Correspondencia
Henry Jr. Parra Vera, Microbiólogo, henryparra1970@gmail.com

Fecha de envío: 03/08/2021
Fecha de aprobación: 09/08/2021
Fecha de publicación: 05/10/2021

Fuente de financiamiento
Los autores no recibieron fondos específicos para este trabajo.

Conflicto de interés
Los autores declaran no tener conflictos de interés con la publicación de este artículo.

Citación sugerida
Parra Vera H, et al. Cryptococcus gattii, una breve revisión microbiológica. *Rev Cien Ec*. 2021;3(3); Pág. 1-7. doi: 10.23936/rce.v3i3.38

Resumen

Se efectuó una búsqueda en bases de datos y metabuscadores como Pubmed, Scielo y Google Scholar, por medio del uso de los operadores booleanos y términos DECS o MESH registrados (Meningitis, Cryptococcal) AND (Cryptococcosis), de acceso libre, en últimos 10 años, seleccionado aquellos que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión, que analizaran el agente C. Gattii, con el objetivo de realizar una revisión acerca de este microorganismo desde el punto de vista microbiológico, para esclarecer el conocimiento acerca de este agente micótico relativamente desconocido por profesionales sanitarios. Debido a los escasos documentos btenidos de la búsqueda se amplió a otras fuentes de datos, para recabar información acerca de *C. gattii*.

Palabras clave: Meningitis criptocócica; Criptococosis; Microbiología; Cryptococcus gattii;

Cryptococcus gattii, a brief microbiological review

Abstract

A research was conducted in databases and meta-search engines such as Pubmed, Scielo and Google Scholar, using Boolean operators and DECS or MESH terms registered (Meningitis, Cryptococcal) AND (Cryptococcosis), freely accessible, in the last 10 years, selecting those that met the inclusion and exclusion criteria, which analysed the agent C. Gattii, with the aim of reviewing this microorganism from a microbiological point of view, in order to clarify the knowledge about this fungal agent relatively unknown by health professionals. Due to the limited documents obtained from the research, we expanded our search to other data sources to gather information about C. gattii.

Keywords: *Meningitis, Cryptococcal; Cryptococcosis; Microbiology; Cryptococcus gattii;*

Abstrato

Foi realizada uma pesquisa em bancos de dados e motores de metabusca como Pubmed, Scielo e Google Scholar, utilizando operadores booleanos e termos DECS ou MESH registrados (Meningite, Criptococócica) E (Criptococose), de livre acesso, nos últimos 10 anos, selecionando aqueles que preenchiam os critérios de inclusão e exclusão, que analisaram o agente C. Gattii, com o objetivo de revisar este microorganismo do ponto de vista microbiológico, a fim de esclarecer o conhecimento sobre este agente fúngico relativamente desconhecido pelos profissionais de saúde. Devido aos documentos limitados obtidos a partir da pesquisa, expandimos nossa pesquisa para outras fontes de dados para coletar informações sobre o C. gattii.

Palavras-chave: *Meningite Criptocócica; Criptococose; Microbiologia; Cryptococcus gatti*

Introducción

La criptococosis es una infección micótica invasiva cosmopolita, la cual es causada por microorganismos del género *Cryptococcus* (*C.*), el cual fue identificado en 1935 por Benham a partir de las especies *Saccharomyces neoformans*, *Cryptococcus hominis*, *Torula neoformans*, *Torula histolytica* y *Debaryomyces hominis*, como pertenecientes a la misma especie, para lo cual propuso el nombre de *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*); los criptococos mantienen una amplia distribución en la naturaleza, son hongos levaduriformes (levaduras redondas u ovales de 3,5-8 µm), encápsulados (la cápsula está formada en su mayoría por galactoxilmanano y manoproteína, así como, por glucuroxilomanano) lo cual le confiere virulencia, y se reproducen por gemación (única o múltiple), con un cuello estrecho entre la célula madre e hija [1–7].

Actualmente el género incluye alrededor de 100 especies distintas, siendo el complejo *C. neoformans* el único considerado como patógeno humano, agentes como *C. uniguttulatus, C. humicola, C. curvatus, C. luteolus, C. laurentii* y *C. albidus*, han sido reportados como agentes de infecciones en humanos [2].

Los primeros casos reportados de infección por *Criptococcus* datan de 1894, a partir del aislamiento del hongo *C. neoformans* en la tibia de un paciente de 31 años; la asignación del término *neoformans* se atribuye a la posibilidad de generar cáncer o tumor; de forma casi simultánea, Sanfelice aisló una levadura encápsulada, a partir de una muestra de jugo de durazno, misma que genero lesiones en animales, Vuillemin en 1901 lo denomino *Cryptococcus hominis*; Lodder y Kreger-Van Rji, en 1970, fueron los primeros en utilizar el nombre *C. neoformans,* en 1984, Kwon-Chung revelo dos tipos diferentes de especies teleomorfas (reproducción sexual), *Filobasidiella neoformans* y *Filobasidiella bacillispora*, ambas morfológicamente distintas, estando la última caracterizada por basidiosporas de paredes lisas y forma baciliforme [2,6,8].

En los últimos años ha acontecido un incremento de la prevalencia de reportes de *C. gattii* como agente infeccioso a partir de un brote en la isla de Vancouver [9]. La importancia del conocimiento de los distintos serotipos es fundamental dada la predilección de los microorganismos de este complejo, por el sistema nervioso central del ser humano sobre cualquiera de los otros órganos o sistemas, de ahí que la presente revisión tenga como objetivo dar una visión detallada de la microbiología y los métodos diagnósticos para la detección del *C. gattii*.

Desarrollo

Aspectos microbiológicos del género Cryptococcus

C. gattii es un tipo de hongo levaduriforme, de la división *Basidiomycota*, del subfilo *Agaricomycotina*, perteneciente a la familia *Tremellales* y género *Filobasidiella* (que contiene 3 taxones hermanos, distintos filogenéticamente del género polifilético *Crytococcus*), al que pertenece el género filogenético *Cryptococcus*, del reino *Fungi*, que crecen principalmente como levaduras de gemación asexual en el medio ambiente y dentro de huéspedes humanos y animales, sin excluir la reproducción sexual entre células con el mismo o distinto tipo de apareamiento [6,7]. Durante el desarrollo sexual las levaduras experimenta una transición dimórfica al crecimiento de hifas, generando micelios y formando basidiosporas, se desconoce si las blastosporas o las basidiosporas resultantes de la reproducción sexual pueden ser propagantes infecciosos [6].

De hecho el primer caso informado de infección humana del microorganismo seria de 1896, realizado por Curtis a partir de un aislado clínico de Francia, identificado primeramente como *Saccharomyces subcutaneus tumefaciens*, al cual un análisis de 2002 demostró que era en realidad *C. gattii*, sin embargo históricamente el primer reporte fue el de Gatti y Eeckels en 1970, de un sujeto de 7 años de edad, originario del Congo, el cual se halló una infección por criptococo similar a *C. neoformans* en 1966 [6,7,10]. Originalmente dentro del *C. neoformans,* se describieron cuatro serotipos (A, B, C, D) según la composición de la cápsula [8].

Identificado como especie a partir de los experimentos de Kwon en 1984, paso a denominarse como *C. bacillisporus*; posteriormente estudios de *C. neoformans* var *gattii* informadas por Vanbreuseghem y Takashio y de *C. bacillisporus* cepa (NIH 191, CBS 6955 o ATCC 32608) aislada a partir de líquido cefalorraquídeo de un paciente de California, presentaban las mismas características bioquímicas, morfológicas y serológicas; así mismo, se observó hibridación entre cepas de *F. neoformans* y *F. bacillispora,* donde una cepa MAT α del tipo de cultivo de *C. neoformans* var. *gattii* (serotipo B) se cruzó con una cepa MAT a, de *C. neoformans* (serotipo D), produciendo basidiosporas viables, posteriormente la generación F1 mostro mezcla entre *F. neoformans* y *F. bacillispora*, fue en base a estas observaciones que la nomenclatura de C. *bacillisporus* se redujo nuevamente a *C. neoformans* var. *gattii* por ser más antigua [6].

En 1970 debido a las observaciones de "*características morfológicas, bioquímicas, moleculares, ecológicas, patobiológicas y clínicas diferentes, entre las dos variedades de C. neoformans, las relaciones filogenéticas volvieron a ser sujeto de análisis mediante el uso de secuenciación de ADN*" una vez catalogadas las diferencias filogenéticas, morfológicas y biológicas, cumpliendo por tanto el criterio de especies diferentes, se designaron como tales en 2002, manteniéndose posterior a la comparación de genomas completos donde se revelo un 87% de identidad entre ellos [6,11,12].

El complejo *C. gattii* se conforma por las subespecies *C. gattii* sensu *stricto* (AFLP4/VGI), *C. deuterogatii* (AFLP6/VGII), *C. bacillisporus* (AFLP5/VGIII), *C. tetragattii* (AFLP7/VGIV) y *C. decagattii* (AFLP10/VGIII y VGIV), siendo predominantes en Ecuador el serotipo VGI [3,4,6,12–21].

El objeto de evaluación continua por medio de uso generalizado de análisis de tipificación de secuencias de locus múltiples (MLST por sus siglas en inglés), y secuenciación del genoma completo, representando por tanto, estas especies de hongos de entre los patógenos fúngicos humanos, aquellas con la base de datos de MLST más robustas, así como, la plataforma de secuenciación de genoma completo y análisis detallados de cepas que podrían expandirse de forma formidable en un futuro próximo, debido a la plasticidad y capacidad de microevolución presentes en los genomas criptocócicos, los cuales se observaron tanto en cepas in vitro como en el ambiente estresante del espacio subaracnoideo humano; esta cualidad es lo que dificulta caracterizar el compuesto de virulencia genética completa [13,22,23]. Siendo por tanto, que el compuesto de virulencia de la levadura encápsulada sea multigenético, cambiante y complejo; de ahí que existan aislamiento múltiple de cepas diferentes en el sitio de infección, reaccionando de forma similar funcionalmente y diferente con

doi: 10.23936/rce.v3i3.38

respecto a la regulación de las respuestas ante el estrés, y los genes transportadores para sobrevivir en el ambiente hostil [22].

Dentro de los hallazgos microscópicos observados, de forma excepcional se ha descrito la gemación múltiple, la presencia de formas alargadas y pseudohifas; la cápsula que los envuelve es de naturaleza polisacárida y les confiere virulencia (usualmente puede ser pobremente encápsulada, mientras que en los tejidos puede presentarse una gran cápsula), protección contra la fagocitosis, además de, variación en el tamaño de la misma dependiendo de la cepa y medio de cultivo utilizado para el aislamiento de la levadura del microorganismo [2,3].

El complejo *C. neoformans* se consideraba que contenía 3 variedades, identificándose el serotipo A como *C. neoformans* var. *grubii* y el serotipo D como *C. neoformans* var. *neoformans*, habiendo híbridos entre ambos serotipos (AD), mientras los serotipos B y C, conforman el *C. neoformans* var. *gattii* [1,2,8]. Se ha descrito la presencia de híbridos entre las variedades de los serotipos de *C. gattii* específicamente entre serotipos como BC, BD, AB [1,3]. Actualmente se estima que la especie *C. gattii* pudo haberse separado de *C. neoformans*, hace aproximadamente 16 millones a 160 millones años, y que Sudamérica predomina como fuente de *C. gattii* VGII, serotipo virulento que ha emergido en Norteamérica [7].

Si bien en el complejo existen dos estados telemórficos, en la *C. neoformans* var. *gattii* podemos observar el *Fillobasidiella neoformans* var *bacillispora* (*F. bacillispora*), siendo su comportamiento de tipo heterotálico, con hallazgos de aislamientos de variedad ɑ y a en la naturaleza, mientras que en los aislamientos clínicos predominan los tipos ɑ (95%) [1]. En la variedad *gattii*, dentro de sus características bioquímicas, puede observarse que asimilan los ácidos 1-málico, fumárico y succínico, produciendo pigmento verde sobre agar niger y agar 6-cavanina-glicina de bromotimol (CBG), asimilando la glicina como fuente de carbono [2].

La patogenicidad entre las variedades, así como su distribución geográfica, es variable, siendo predominante la afección de sujetos inmunodeprimidos con las variedades *neoformans*, las cuales tienen una distribución mundial; mientras que la variedad *gattii* afecta de forma predominante a sujetos inmunocompetentes, y se localiza en regiones tropicales y subtropicales [1,2,8,20].

C. gattii ha sido localizado en distinta especies de eucaliptos y en koalas (Australia, donde es considerado endémico, ya que ha sido encontrado en arboles de eucalipto), así como, en zonas de Canadá (como la isla de Vancouver), en los estados de Washington, Oregón, la Columbia Británica, y en otras zonas geográficas asociándose a infecciones en sujetos sanos o inmunocompetentes, por ejemplo en Brasil predomina el serotipo VGII, asociado a infecciones en este último grupo, mientras en Europa y China es el VGI (se atribuye a la industria maderera, y a la introducción de árboles de eucalipto desde Australia, lo cual podría relacionarse con la presencia del microorganismo en Ecuador) [3,6,7,11,12,17,20,24–32].

El que los criptococos ambientales tengan la capacidad de infectar a varios huéspedes vertebrados e invertebrados, refleja la capacidad de adaptación a una variedad de condiciones diferentes, siendo la adaptación metabólica un requisito importante para la persistencia de los microorganismos en los huéspedes, identificándose múltiples genes y vías esenciales para la resistencia al estrés y crecimiento a altas temperaturas; así también la expresión de factores que interfieren con la respuesta inmune del huésped, la cápsula por ejemplo "*inhibe la unión de anticuerpos a la pared celular del hongo, activa y agota el complemento, suprime la proliferación de linfocitos T, modula la producción de citocinas e induce la apoptosis de la célula huésped; siendo el engrosamiento de la cápsula durante la infección y la formación de células Titán gigantes que varían en tamaño de 50 a 100 µm, es un mecanismo antifagocítico utilizado por este género*" [4].

Además, esta especie comparte los principales determinantes de virulencia de *C. neoformans*, pero con diferentes fenotipos, de hecho, el serotipo VGII ocasionaría enfermedad pulmonar grave y muerte sin diseminación, a diferencia de *C. neoformans* que se disemina al sistema nervioso central (SNC) con facilidad; en general los serotipos VGI y VGII afectarían predominantemente a sujetos inmunocompetentes y VGIII y VGIV, afectarían a sujetos inmunodeprimidos [7,20,33].

Métodos diagnósticos

Los criptococos son patógenos de importancia en humanos y animales, redondos con cápsula y prueba de ureasa positiva, los cuales no permiten la distinción entre las distintas especies, el infradiagnóstico de la infección por *C. gattii* debido al uso de técnicas como la tinción de tinta China y métodos bioquímicos como VITEK 2 compact para la identificación rutinaria; se ha recomendado el uso de agar CBG para la diferenciación de las especies gattii y neoformans, por su conveniencia y bajo costo; así también, el uso de MALDI-TOF MS con software Bruker 3.0 que permite la

identificación del microorganismo [28,34]. La tinción de ácido peryódico-Schiff (PAS) en muestras de pulmón, SNC, médula ósea, bazo, hígado y útero, así como, la tinción plata Grocott-Gomorimethenaine en muestras de SNC, a partir de autopsias [10]. El estudio de Hagen et al., efectuó cultivo y aislamiento de los criptococos a partir de agar extracto de malta durante 2 días a 25°C, la colección se mantuvo a 25°C y 4°C durante 48 horas, mientras que las existencias fueron almacenadas en crioviales a 80°C [21].

Con base en lo previo se podría concluir que el diagnóstico es relativamente sencillo, ya que las técnicas empleadas van desde examen directo del hongo en fluidos corporales con métodos de tinción como tinta China (86% de sensibilidad, con disminución en paciente VIH negativos), de histopatología del tejido infectado con tinciones específicas para identificación de la cápsula (mucicarmín y azul alciano), o presencia de melanina (Fontana-Masson), sin embargo, pese a lo sencillo de las técnicas empleadas, el subdiagnóstico de estos microorganismos, puede deberse a la no consideración de los factores de riesgo o a la no consideración de la enfermedad por parte del médico, debido a lo inespecífico de los síntomas; el método definitivo en países o zonas de recursos limitados es el cultivo, usualmente para el crecimiento se utiliza agar Sabouraud dextrosa a incubación de 30°C, los cuales pueden resultar negativos en casos de exposición a antifúngicos o requerir periodos de cultivo superiores a tres semanas (22,28,35).

Dentro de los análisis serológicos la detección antígeno criptocócico (CrAg) por inmunocromatografía de flujo lateral (LFA), compuesto de polisacárido de la cápsula del hongo que se desprende en los fluidos biológicos, puede detectarse como un marcador de la presencia del hongo, que como ventaja presenta un costo relativamente económico, que ha demostrado sensibilidad del 99.3% y especificidad de 99.1% con valor predictivo positivo de 99.5%, mientras que la versión de ensayo de aglutinación látex (ELISA CrAg) demostró sensibilidad de 40%, sin embargo, ninguno forma parte de la práctica clínica rutinaria, pese la rapidez de sus resultados (2-3 horas) o mayor sensibilidad en pacientes con VIH [3,6,7,22,35–38].

Los criptococos proliferan perfectamente en todos los medios de cultivo, constituyendo colonias mucosas de coloración variable (crema, ocre, rosa o amarillo), cambiando a tonos más oscuros con el tiempo y tornándose de apariencia seca; las cepas con cápsulas pequeñas forman colonias similares al género *Candida*; las levaduras de las distintas variedades son anamórficas, tanto en muestras clínicas como ambientales; mientras que en laboratorio las cepas de *C. gattii* producen basidioconidias alargadas, de forma bacilar (*F. bacillispora*) [3,28].

De hecho, actualmente existe una simple diferencia bioquímica que permite discriminar entre *C. neoformans* y *C. gattii*, el uso de agar CGB (como se ha mencionado previamente), el cual permite la diferenciación entre las especies, por el color de las colonias (reacción de color azul reductor de bromitol, mientras que *C. neoformans* mantiene el color verdoso), así también pueden distinguirse por medio de las técnicas de secuenciación e incluso MALDI-TOF, las cuales permiten separar las especies y genotipos, sin embargo esto no se refleja necesariamente con diferencias en el tratamiento y en el resultado del mismo, el cual no está esclarecido por que se deben a variaciones de especies con o sin resistencia a antifúngicos que pueden ser detectadas por genes en la secuenciación [22,39]. El tipo molecular fue determinado en todos los aislamientos por medio de la reacción en cadena de la polimerasa, con el cebador $(GTG)_5$, que permitieron determinar los tipos de apareamiento a y ɑ, mencionados previamente [40].

Referencias

1. Tello M, Gutiérrez E, Béjar V, Galarza C, Ramos W, Ortega-Loayza A. Criptococosis. *Rev. Méd. Risaralda*. 2013;19(2): 147–153.

2. Martín-Mazuelos E, Valverde-Conde A. *CRIPTOCOCOSIS: DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO Y ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD IN VITRO*. [Online] Control Calidad SEIMC; Available from: https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/cripto.pdf

3. Martín-Mazuelos E, Aller García AI. Aspectos microbiológicos de la criptococosis en la era post-TARGA. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010;28(Supl 1): 40–45.

4. Shourian M, Qureshi ST. Resistance and Tolerance to Cryptococcal Infection: An Intricate Balance That Controls the Development of Disease. *Frontiers in Immunology*. [Online] 2019;10: 66. Available from: doi:10.3389/fimmu.2019.00066

5. Mourad A, Perfect JR. The war on cryptococcosis: A Review of the antifungal arsenal. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*. [Online] 2018;113(7): e170391. Available from: doi:10.1590/0074-02760170391

6. Chen SC-A, Meyer W, Sorrell TC. Cryptococcus gattii infections. *Clinical*

Microbiology Reviews. [Online] 2014;27(4): 980–1024. Available from: doi:10.1128/CMR.00126-13

7. Harris J, Lockhart S, Chiller T. Cryptococcus gattii : where do we go from here? *Medical Mycology*. [Online] 2012;50(2): 113–129. Available from: doi:10.3109/13693786.2011.607854

8. Vázquez Tsuji O, Martínez Barbabosa I, Campos Rivera T. Criptococosis. Historia natural y estado actual del tratamiento. *Acta Pediátrica de México*. 2005;26(1): 18–28.

9. Dhitinanmuang W, Chongtrakool P, Jitmuang A. Undiagnosed Cryptococcus gattii meningitis leading to subsequent ventriculoperitoneal shunt infection in a patient with symptoms of normal pressure hydrocephalus: case report and literature review. *BMC infectious diseases*. [Online] 2018;18(1): 257. Available from: doi:10.1186/s12879-018-3165-y

10. Hurtado JC, Castillo P, Fernandes F, Navarro M, Lovane L, Casas I, et al. Mortality due to Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii in low-income settings: an autopsy study. *Scientific Reports*. [Online] 2019;9(1): 7493. Available from: doi:10.1038/s41598-019-43941-w

11. Dixit A, Carroll SF, Qureshi ST. Cryptococcus gattii : An Emerging Cause of Fungal Disease in North America. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. [Online] 2009;2009: 1–13. Available from: doi:10.1155/2009/840452

12. May RC, Stone NRH, Wiesner DL, Bicanic T, Nielsen K. Cryptococcus: from environmental saprophyte to global pathogen. *Nature Reviews Microbiology*. [Online] 2016;14(2): 106–117. Available from: doi:10.1038/nrmicro.2015.6

13. Janbon G, Ormerod KL, Paulet D, Byrnes EJ, Yadav V, Chatterjee G, et al. Analysis of the genome and transcriptome of Cryptococcus neoformans var. grubii reveals complex RNA expression and microevolution leading to virulence attenuation. *PLoS genetics*. [Online] 2014;10(4): e1004261. Available from: doi:10.1371/journal.pgen.1004261

14. Okurut S, Boulware DR, Olobo J, Meya DB. Landmark clinical observations and immunopathogenesis pathways linked to HIV and Cryptococcus fatal central nervous system co-infection. *Mycoses*. [Online] 2020;63(8): 840–853. Available from: doi:10.1111/myc.13122

15. Xue X, Deng H, Zhao L, Zang X, Asuquo IP, Meng M, et al. Cryptococcosis caused by cryptococcus gattii: 2 case reports and literature review. *Medicine*. [Online] 2020;99(50): e23213. Available from: doi:10.1097/MD.0000000000023213

16. Kinne J, Joseph M, Wernery U, Nogradi N, Hagen F. Disseminated Cryptococcus deuterogattii (AFLP6/VGII) infection in an Arabian horse from Dubai, United Arab Emirates. *Revista Iberoamericana de Micología*. [Online] 2017;34(4): 229–232. Available from: doi:10.1016/j.riam.2017.02.007

17. Chen M, Hong N, Hu S, Wang P, Guan H, Xiao M, et al. Molecular identification of Cryptococcus gattii from cerebrospinal fluid using single-cell sequencing: A case study. *Journal of Infection*. [Online] 2020;81(4): 634–638. Available from: doi:10.1016/j.jinf.2020.06.040

18. Chen M, Xu Y, Hong N, Yang Y, Lei W, Du L, et al. Epidemiology of fungal infections in China. *Frontiers of Medicine*. [Online] 2018;12(1): 58–75. Available from: doi:10.1007/s11684-017-0601-0

19. Fang W, Fa Z, Liao W. Epidemiology of Cryptococcus and cryptococcosis in China. *Fungal Genetics and Biology*. [Online] 2015;78: 7–15. Available from: doi:10.1016/j.fgb.2014.10.017

20. Firacative C, Meyer W, Castañeda E. Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii Species Complexes in Latin America: A Map of Molecular Types, Genotypic Diversity, and Antifungal Susceptibility as Reported by the Latin American Cryptococcal Study Group. *Journal of Fungi*. [Online] 2021;7(4): 282. Available from: doi:10.3390/jof7040282

21. Hagen F, Khayhan K, Theelen B, Kolecka A, Polacheck I, Sionov E, et al. Recognition of seven species in the Cryptococcus gattii/Cryptococcus neoformans species complex. *Fungal Genetics and Biology*. [Online] 2015;78: 16–48. Available from: doi:10.1016/j.fgb.2015.02.009

22. Perfect JR, Bicanic T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. *Fungal genetics and biology: FG & B*. [Online] 2015;78: 49–54. Available from: doi:10.1016/j.fgb.2014.10.003

23. Hu G, Wang J, Choi J, Jung WH, Liu I, Litvintseva AP, et al. Variation in chromosome copy number influences the virulence of Cryptococcus neoformans and occurs in isolates from AIDS patients. *BMC genomics*. [Online] 2011;12: 526. Available from: doi:10.1186/1471-2164-12-526

24. Delgado N, Cedeño J, Granda C, Jumbo J, Jara E. Cryptococcus neoformans en

paciente VIH, a propósito de un caso. *INSPILIP*. [Online] 2020;4(1): 1–10. Available from: doi:10.31790/inspilip.v4i1.98.g173

25. Kidd SE, Hagen F, Tscharke RL, Huynh M, Bartlett KH, Fyfe M, et al. A rare genotype of Cryptococcus gattii caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. [Online] 2004;101(49): 17258–17263. Available from: doi:10.1073/pnas.0402981101

26. Barcellos VA, Martins LMS, Fontes ACL, Reuwsaat JCV, Squizani ED, de Sousa Araújo GR, et al. Genotypic and Phenotypic Diversity of Cryptococcus gattii VGII Clinical Isolates and Its Impact on Virulence. *Frontiers in Microbiology*. [Online] 2018;9: 132. Available from: doi:10.3389/fmicb.2018.00132

27. Colucci N, Teasca L, Riat A, Lazarevic V, Van Delden C, Berney T, et al. First case of Cryptococcus gattii multilobar pneumonia in Switzerland and associated challenges. *Swiss Medical Weekly*. [Online] 2020; Available from: doi:10.4414/smw.2020.20306 [Accessed: 26th July 2021]

28. Jin L, Cao J-R, Xue X-Y, Wu H, Wang L-F, Guo L, et al. Clinical and microbiological characteristics of Cryptococcus gattii isolated from 7 hospitals in China. *BMC Microbiology*. [Online] 2020;20(1): 73. Available from: doi:10.1186/s12866-020-01752-4

29. Chen M, Pan W-H, Boekhout T. Cryptococcus gattii infections in China: extent of the problem? *Chinese Medical Journal*. 2013;126(2): 203–205.

30. Chen M, Liao W, Wu S, Yao Z, Pan W, Liao Y. Taxonomic analysis of cryptococcus species complex strain S8012 revealed Cryptococcus gattii with high heterogeneity on the genetics. *Chinese Medical Journal*. 2011;124(13): 2051–2056.

31. Escandón P, Quintero E, Granados D, Huérfano S, Ruiz A, Castañeda E. Aislamiento de Cryptococcus gattii serotipo B a partir de detritos de Eucalyptus spp. en Colombia. *Biomédica*. [Online] 2005;25(3): 390. Available from: doi:10.7705/biomedica.v25i3.1363

32. Hagen F, Colom MF, Swinne D, Tintelnot K, Iatta R, Montagna MT, et al. Autochthonous and Dormant Cryptococcus gattii infections in Europe. *Emerging Infectious Diseases*. [Online] 2012;18(10): 1618–1624. Available from: doi:10.3201/eid1810.120068

33. Byrnes EJ, Li W, Ren P, Lewit Y, Voelz K, Fraser JA, et al. Correction: A Diverse Population of Cryptococcus gattii Molecular Type VGIII in Southern Californian HIV/AIDS Patients. Mitchell AP (ed.) *PLoS Pathogens*. [Online] 2011;7(11). Available from: doi:10.1371/annotation/a23709b0-8d67-4b57-aa05-d5d70d830724 [Accessed: 25th July 2021]

34. Remel. *CGB AGAR*. [Online] Remel Technical Manual of Microbiological Media; Available from: https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/IFU1299.pdf

35. Chammard TB, Temfack E, Lortholary O, Alanio A. Diagnostic and therapeutic strategies in cryptococcosis: impact on outcome. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*. [Online] 2018;113(7): e180050. Available from: doi:10.1590/0074-02760180050

36. Bahr NC, Boulware DR. Methods of rapid diagnosis for the etiology of meningitis in adults. *Biomarkers in Medicine*. [Online] 2014;8(9): 1085–1103. Available from: doi:10.2217/bmm.14.67

37. McMullan BJ, Sorrell TC, Chen SC-A. Cryptococcus gattii infections: contemporary aspects of epidemiology, clinical manifestations and management of infection. *Future Microbiology*. [Online] 2013;8(12): 1613–1631. Available from: doi:10.2217/fmb.13.123

38. Akins PT, Jian B. The Frozen Brain State of Cryptococcus gattii: A Globe-Trotting, Tropical, Neurotropic Fungus. *Neurocritical Care*. [Online] 2019;30(2): 272–279. Available from: doi:10.1007/s12028-018-0538-4

39. Kwon-Chung KJ, Polacheck I, Bennett JE. Improved diagnostic medium for separation of Cryptococcus neoformans var. neoformans (serotypes A and D) and Cryptococcus neoformans var. gattii (serotypes B and C). *Journal of Clinical Microbiology*. [Online] 1982;15(3): 535–537. Available from: doi:10.1128/jcm.15.3.535-537.1982

40. Lizarazo J, Escandón P, Agudelo CI, Castañeda E. Cryptococcosis in Colombian children and literature review. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*. [Online] 2014;109(6): 797–804. Available from: doi:10.1590/0074-0276130537

Nota: Conforme la política interna de la editorial lo permite, y por decisión propia de los autores, la revisión gramatical en lengua española de la versión de publicación fue validada por los propios autores, quienes se responsabilizan de la integridad, falta de errores, y versión final del artículo.